

KAZIMIERZ KOCHMAN

## GnRH i jego receptor

**40-lecie ustalenia struktury pierwszorzędowej GnRH**  
**100-lecie urodzin prof. Eugeniusza Domańskiego**  
**90-lecie urodzin prof. Mariana Jutisza**

### Wstęp

GnRH jest kluczowym peptydem podwzgórzowym dla zapoczątkowania całej kaskady reakcji hormonalnych po jego związaniu się ze specyficznym receptorem na powierzchni komórki przedniej części przysadki. Jest on syntetyzowany w neuronach okolicy przedwzrokowej podwzgórza, a następnie poddany przekształceniom w neuronach z dużego prohormonu do aktywnego dekapeptydu przez enzymy a następnie przechowywany w granulach sekrecyjnych, skąd jest transportowany do okolicy zewnętrznej wyniosłości pośrodkowej (Millar i wsp., 2004; Cheng i Leung, 2005). Peptyd ten jest uwalniany w sposób pulsacyjny, w pulsach zsynchronizowanych, z zakończeń nerwowych, z których przez krążenie wrotne co 30-120 minut dostaje się do przedniej części przysadki. Tam stymuluje uwalnianie i biosyntezę LH i FSH z gonadotropów po uprzednim związaniu się ze specyficznym receptorem GnRH typu I. Każdy puls GnRH stymuluje sekrecję i biosyntezę LH i FSH (Millar i wsp., 2004), lecz pulsy FSH są mniej wyraźne.

LH jest zgromadzony w przedniej przysadce i zależny od związania się GnRH z receptorem na błonie komórki przysadkowej, z której jest uwalniany. Częstotliwość pulsów jest największa podczas wyrzutu owulacyjnego, a najniższa w czasie fazy lutealnej cyklu płciowego. Zsynchronizowany układ wyrzutu LH i FSH wynika ze zmian pulsów GnRH, modulującego wpływu steroidów gonadowych i hormonów peptydowych na odpowiedź stymulacyjną przez GnRH, oraz różnice w okresie półtrwania tych hormonów. Całe spektrum różnych naturalnych GnRH oraz odpowiadających im receptorów u ssaków i zwierząt niższych, ich wzajemne powinowactwo oraz różnice poznano w wyniku badań. Duża wiedza dotycząca tego problemu nie pozwala na omówienie wszystkich aspektów i wyników badań na temat GnRH. Pragnę omówić najważniejsze problemy i badania dotyczące struktury GnRH i jego genu, struktury receptora GnRH i jego genu oraz podstawowe problemy dotyczące biosyntezy receptora, a także sygnalizacji wewnątrzkomórkowej kompleksu GnRH-Receptor (GnRH-R).

---

Prof. dr hab. Kazimierz Kochman, Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN, Zakład Neuroendokrynologii, Jabłonna, e-mail: k.kochman@ifzz.pan.pl

### Określenie struktury GnRH i jego receptora oraz struktury ich genów

Ssaczy GnRH (mGnRH; GnRH I; pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>) został wyizolowany najpierw z podwzgórz owczych, bydłęcych i świńskich w szeregu laboratoriów, wśród nich i w naszym Laboratorium (Kochman 1966; 1969, Kochman i Domański 1969), lecz w końcu jego struktura pierwszorzędowa została ustalona przez dwie niezależne grupy badawcze kierowane przez Andrew V. Schally i Roger Guillemina (Matsuo i wsp., 1971 i Burgus i wsp., 1972), którzy zostali uhonorowani za te badania Nagrodą Nobla w roku 1977. Najpierw uważano, że jest tylko jedna struktura GnRH u wszystkich zwierząt i u ludzi, i posiada jedną rolę fizjologiczną w regulacji uwalniania i biosyntezy LH i FSH z przedniego płata przysadki mózgowej. W czasie następnych lat intensywnych badań stało się jasne, że wiele form tego peptydu istnieje u kręgowców, a obecnie zidentyfikowano i określono strukturę 30 różnych GnRH. 15 z nich zostało zidentyfikowanych u kręgowców (Millar i wsp., 2004, Roch i wsp., 2011), 9 form GnRH zidentyfikowano u przedstrunowców, które są przodkami kręgowców (Adams i wsp., 2003; Millar i wsp., 2004), a także zidentyfikowano homolog posiadający 12 reszt aminokwasowych u ośmiornicy oraz 5 GnRH u innych bezkręgowców (ryc. 1) (Iwakoshi i wsp., 2002, Roch i wsp., 2011). Częsteczki GnRH są obecne w wielu tkankach u kręgowców, wykonując w nich szereg różnych funkcji, w dodatku do funkcji neuroendokrynej. Działają one w sposób parakryny w łożysku i gonadach, w sposób autokryny w neuronach GnRH, komórkach immunogennych oraz pełnią rolę neurotransmiterów i neuromodulatorów w centralnym i obwodowym układzie nerwowym, np. w zwojach sympatycznych i w śródmózgowiu (Millar i wsp., 2004). Żadna z tych funkcji nie przebiega przez dostarczenie GnRH do komórki docelowej przez krążenie ogólne. Jedna forma GnRH byłaby w stanie spełniać wszystkie te funkcje ale wiadomo obecnie, że przynajmniej dwie, a nawet trzy różne formy GnRH są obecne u większości kręgowców. GnRH kurczący II, wyizolowany początkowo z mózgu kurcząt, jest obecny u zdecydowanej większości gatunków zwierząt.

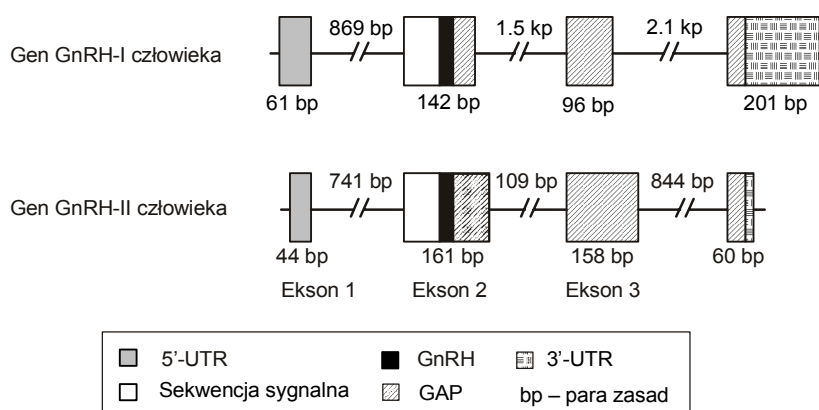
Struktura kurczącego GnRH II jest zachowana w sposób doskonały i jest obecna u wszystkich gatunków, od ryb kostnoszkieletowych do człowieka, jest ona formą najwcześniej wyewoluowaną, została później nazwana GnRH II, podczas gdy GnRH podwzgórzowy został nazwany GnRH I. U większości gatunków kręgowców została zidentyfikowana również trzecia forma GnRH, bardzo zachowawcza (łososiowy GnRH) i zlokalizowana w zakończeniach nerwowych w przednim mózgowiu u ryb kostnoszkieletowych, następnie została ona nazwana GnRH III. GnRH III zachował pełną konserwację sekwencji, lecz jest obecny tylko u ryb kostnoszkieletowych, co oznacza, że jego gen został utworzony po zróżnicowaniu ryb kostnoszkieletowych i odłączeniu ich od ścieżki ewolucyjnej kręgowców. Należy odnotować interesujący fakt, że w genomie ryby łososiowatej – nerki istnieją dwa geny kodujące ten GnRH (GnRH III).

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
1	Ssak*	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
2	Kurczak I	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Gln	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
3	Świnka morska	pGlu	<b>Tyr</b>	Tyr	Ser	Tyr	Gly	Val	Arg	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
4	Żaba	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Trp	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
5	Seabream <sup>2</sup>	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Ser	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
6	Łosoś <sup>***</sup>	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Trp	Leu	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
7	Ryżanka jap. <sup>1</sup>	pGlu	His	Trp	Ser	Phe	Gly	Leu	Ser	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
8	Zębacz	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Leu	Asn	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
9	Whitefish	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Met	Asn	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
10	Śledź	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Leu	Ser	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
11	Pies morski	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Trp	Leu	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
12	Minóg morski II	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Trp	Phe	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
13	Kurczak II**	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Trp	Tyr	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
14	Minóg morski III	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Trp	Lys	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
15	Minóg morski I	pGlu	His	<b>Tyr</b>	Ser	Leu	Glu	Trp	Lys	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
16	Chelyosoma I	pGlu	His	Trp	Ser	Asp	Tyr	Phe	Lys	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
17	Chelyosoma II	pGlu	His	Trp	Ser	Leu	Cys	His	Ala	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
18	Żachwa I	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Ala	Leu	Ser	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
19	Żachwa II	pGlu	His	Trp	Ser	Leu	Ala	Leu	Ser	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
20	Żachwa III	pGlu	His	Trp	Ser	Asn	Gln	Leu	Thr	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
21	Żachwa IV	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Glu	Phe	Met	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
22	Żachwa V	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Glu	Tyr	Met	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
23	Żachwa VI	pGlu	His	Trp	Ser	Lys	Gly	Tyr	Ser	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
24	Żachwa VII	pGlu	His	Trp	Ser	Asn	Lys	Leu	Ala	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
25	Ośmiornica	pGlu	Asn	Tyr	His	Phe	Ser	Asn	Gly	Trp	His	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>
26	Jeż morski	pGlu	Val	His	His	Arg	Phe	Ser	Gly	Trp	Arg	Pro	Gly	NH <sub>2</sub>
27	Zając morski	pGlu	Asn	Tyr	His	Phe	Ser	Asn	Gly	Trp	Tyr	Ala	-	NH <sub>2</sub>
28	Skaloczep	pGlu	His	Tyr	His	Phe	Ser	Asn	Gly	Trp	Lys	Ser	-	NH <sub>2</sub>
29	Robak morski	pGlu	Ala	Tyr	His	Phe	Ser	His	Gly	Trp	Phe	Pro	-	NH <sub>2</sub>
30	Pijawka	pGlu	Ser	Ile	His	Phe	Ser	Asn	Ser	Trp	Gln	Pro	-	NH <sub>2</sub>

\* ssak GnRH – mGnRH: GnRH I; \*\* kurczak II – cGnRH II: GnRH II; \*\*\* łosoś GnRH – sGnRH: GnRH III

Ryc. 1. Struktura pierwszorzędowa naturalnie występujących GnRH, które pojawiły się w ciągu 600 mln lat ewolucji. Pogrubione litery skrótów aminokwasów (lewa i prawa strona) pokazują zachowawcze końcowe reszty NH<sub>2</sub>-i COOH, które pełnią istotną rolę funkcyjną. Pozostałe reszty są albo niezbyt istotne, albo są ważne tylko dla poszczególnego receptora GnRH. GnRH są nazwane tak jak nazwy gatunkowe zwierząt, u których były odkryte po raz pierwszy, chociaż występują nie tylko u jednego gatunku, np. ssaczy GnRH jest powszechnie obecny u płazów i prymitywnych ryb ościstych; kurczęcy GnRH II (*chicken* II) jest obecny u większości kręgowców, łącznie z człowiekiem; łososiowy GnRH (GnRH III) jest prawdopodobnie obecny u wszystkich ryb kostnoszkieletowych (Millar i wsp., 2004; Roch i wsp., 2011 – zmodyfikowana). 1) Ryżanka japońska – ryba, której długość nie przekracza 4 cm, charakteryzuje się krótkim okresem rozrodu; w 1994 roku 2 samice i 2 samce tej ryby odbyły 15-dniową podróż w kosmosie, przystąpiły do tarła; złożyły i zapłodniły ikry. Wszystkie osobniki i narybek wróciły żywe na ziemię. 2) Ryba z rodziny *Sparidae* (Ameryka Płn.). *Whitefish*: angielska nazwa ryby z rodziny *Coregonidae*. Numery GnRH: 1-15: kręgowce; 16-24: bezkręgowce, przedstrunowce (*Chelyosoma* i *Ciona*); 25-30: bezkręgowce: ośmiornica – głowonóg (*Octopus vulgaris*); jeż morski-szkarłupień (*Strongylocentrotus purpuratus*); zając morski – mięczak (*Aplysia californica*); skaloczep – mięczak (*Lottia gigantea*); robak morski – pierścienica (*Capitella teleta*), pijawka – pierścienica (*Helobdella robusta*)

Ogólna klasyfikacja GnRH lokująca poszczególne peptydy GnRH w trzech zasadniczych formach wynika z analizy strukturalnej genów kodujących te neurohormony, została ona następnie potwierdzona przez intensywne badania parametrów filogenetycznych (Millar i wsp., 2004). Zarówno sekwencja NH<sub>2</sub> – końcowa (pGlu-His-Trp-Ser), jak również sekwencja C – końcowa (Pro-Gly-NH<sub>2</sub>) cząsteczki GnRH jest całkowicie zachowana od ponad 400 mln lat ewolucji strunowców, tylko z dwoma wyjątkami konserwatywnych podstawień tyrozyny (ryc. 1). GnRH typu I zawiera zróżnicowanie w pozycjach sekwencji aminokwasowej 5, 7 i 8, które są bardzo istotne dla selektywności liganda (Millar i wsp., 2004).

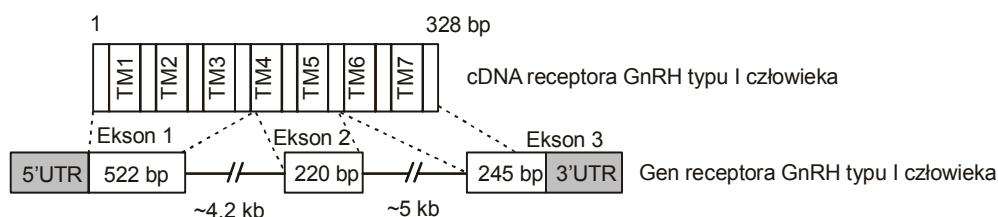


Ryc. 2. Struktury cDNA oraz genów GnRH-I i GnRH-II człowieka. Dwie formy GnRH: GnRH-I oraz GnRH-II, kodowane przez dwa odrębne geny, są obecne na chromosomie 8p11.2-p21 oraz 20p13, odpowiednio. Oba te geny składają się z 4 eksonów, które są poprzetykane przez 3 introny; kodują preprohormony i są ułożone w identyczny sposób: zawierają sekwencję sygnalną, a następnie sekwencję decapeptydu GnRH, miejsce rozszczepienia GKR oraz GAP i 3'-UTR (Cheng and Leung, 2005 – zmodyfikowana)

Struktura genu ludzkiego GnRH I jest pokazana na rycinie 2. Zawiera on cztery eksony, trzy introny i jest usytuowany jako pojedyncza kopia genu na chromosomie 8p11.2-p21 (Radovick i wsp., 1990). Ekson pierwszy tego genu nie podlega translacji i składa się z 61 bp w mRNA. Ekson drugi koduje sekwencję sygnalną, decapeptyd GnRH, sekwencję GKR oraz pierwsze 11 reszt GAP. Ekson trzeci koduje następne 32 reszty GAP. Ekson czwarty koduje pozostałą część reszt GAP, zawiera kodon zakończenia translacji oraz całe 3'-UTR (Adelman i wsp., 1986, Radovick i wsp., 1990).

Gen GnRH II u człowieka jest zlokalizowany na chromosomie 20p13 (White i wsp., 1998) (ryc. 2). Zawiera on cztery eksony oraz trzy introny. Preprohormon GnRH II jest zorganizowany identycznie jak gen GnRH I. Gen ludzkiego GnRH II (2.1 kb) jest krótszy od genu GnRH I (5 kb), ponieważ introny 2 i 3 w genie GnRH I są dłuższe (ryc. 2) (White i wsp., 1998).

Sekwencja aminokwasów w receptorze GnRH typu I myszy została określona po raz pierwszy, po sklonowaniu tego receptora z linii komórkowej  $\alpha$ T3, dokładność ustalenia tej sekwencji została wkrótce potwierdzona. Po identyfikacji sekwencji receptora u myszy, wyizolowano i określono homologiczne DNA u następujących pięciu gatunków ssaków oraz u kręgowca niebędącego ssakiem – człowieka (Kakar i wsp., 1992; Chi i wsp., 1993), szczura (Eidne i wsp., 1992; Kaiser i wsp., 1992), owcy (Illing i wsp., 1993), krowy (Kakar i wsp., 1993), świni (Weesner and Matteri 1994) i ryby zębaczka (Tensen i wsp., 1997). Sekwencja reszt aminokwasowych w receptorach GnRH jest wysoce konserwatywna, u tych sześciu gatunków jest większa aniżeli 85%, a jest prawie identyczna w obrębie ich domen transmembranowych (TM). U człowieka, krowy i owcy części receptora GnRH posiadają 328 reszt aminokwasowych, natomiast receptory myszy i szczura mają łańcuch 327-aminokwasowy, ponieważ jedna reszta jest nieobecna w drugiej domenie zewnątrz komórkowej (EC). Receptor GnRH zębaczka ma długość 370 aminokwasów, gdyż posiada 49-aminokwasowy koniec karboksylowy jako domenę końcową, która jest nieobecna w receptorach ssaków (Millar i wsp., 2001). Struktura genu receptora GnRH typu I ludzkiego jest pokazana na rycinie 3.



Ryc. 3. Struktury cDNA oraz genu ludzkiego receptora GnRH typu I, który jest zlokalizowany na chromosomie 4.21.2 i składa się z 3 eksonów przedzielonych dwoma intronami. Ekson 1 zawiera 5'-UTR (region niepodlegający translacji) oraz koduje pierwsze 3 domeny TM (transmembranowe) oraz część czwartej domeny TM. Ekson 2 składa się z 220 par zasad (bp) i koduje pozostałą część czwartej domeny TM, piątą domenę TM oraz część trzeciego wewnątrzkomórkowego zwoju. Ekson 3 koduje pozostałe części otwartej ramki odczytu oraz zawiera 3'-UTR (Cheng and Leung, 2005 – zmodyfikowana)

### Biosynteza receptora GnRH w przysadce

Komórki przysadkowe linii  $\alpha$ T3-1 posiadają proksymalny 173-p flankujący region, który jest bardzo ważny w kierowaniu ekspresją genu receptora GnRH w komórkach gonadotropowych (Ngan i wsp., 1999). Ten region regulacyjny zawiera dwa elementy specyficzne dla komórek gonadotropowych posiadając sekwencję 5'TGA/TCC-3'. Takie elementy regulacyjne zapewniają specyficzną ekspresję podjednostki  $\alpha$  hormonu glikoproteinowego dla danej komórki (Fowkes i wsp., 2003) oraz LH $\beta$  (Halvorson i wsp.,

1996) genów w gonadotropach przysadkowych. Funkcjonalna ważność SF-1 w regulacji genu receptora GnRH człowieka została odkryta i potwierdzona przez rezultaty ekspresji mRNA typu sense i antisense SF-1, gdy zachodziła odpowiednio stymulacja i represja natywnego promotora (Ngan i wsp., 1999). Ta ekspresja genu, specyficzna dla danej tkanki, może być pośredniczona przez zróżnicowane wykorzystanie promotora w różnych typach komórek (Shields i wsp., 2001).

Badania nad homologiczną aktywacją promotora GnRH myszy w komórkach linii  $\alpha$ T3-1 wykazały integralną rolę ścieżek sygnalizacyjnych consensus AP-1, PKC oraz ERK1/2 (Norwitz i wsp., 1999). Ten stymulujący wpływ GnRH może być powiększony przez uprzednie potraktowanie aktywiną A, która jest hamowana przez folistatynę (Norwitz i wsp., 2002). Homologiczna represja promotora ludzkiego receptora GnRH zachodzi przez aktywne wiązanie c-Fos DNA w miejscu AP-1. Ta negatywna regulacja transkrypcji pośredniczona przez receptor GnRH typu I może służyć jako mechanizm desyntyzyzacji komórek przysadki w odpowiedzi na przedłużającą się stymulację. W sytuacji, gdy takie same warunki wywołują maksymalny efekt stymulacyjny promotora receptora GnRH gryzoni (Norwitz i wsp., 1999), następuje istotne zahamowanie odpowiedniego promotora u człowieka (Cheng i wsp., 2000). Te badania dobrze wspierają hipotezy, że istnieją specyficzne mechanizmy transkrypcyjnej regulacji genów receptora GnRH dla danego gatunku (Cheng i Leung, 2005).

Wykazano, że receptor GnRH wiąże się z białkiem  $G_{q/11}$  w komórkach linii  $\alpha$ T3-1. Jednakże receptor GnRH wiąże się również z białkiem  $G_s$  w komórkach pierwotnych przysadki oraz w komórkach linii G-GH3, a to białko G aktywuje cyklazę adenylnową, prowadząc w rezultacie do syntezy cAMP i aktywacji kinazy białkowej A (Liu i wsp., 2002). Wykazano również, że receptor GnRH jest w stanie wiązać się do wszystkich trzech subrodzin białek G:  $G_{q/11}$ ,  $G_s$ , oraz  $G_i$ , gdy podlega superdispersji w kulturach komórek przysadki szczura oraz w komórkach linii G-GH3. Ten element jest bardzo istotny przy ocenie wiązania się receptora GnRH do różnych białek G i może także kryć w sobie niebezpieczeństwo zastosowania ekstrapolacji wyników badań z jednego z typu komórek do komórek typu innego (Liu i wsp., 2002).

Progesteron hamuje aktywność promotora receptora GnRH typu I w komórkach linii  $\alpha$ T3-1, w zależności od dawki i czasu działania, wywiera on natomiast stymulujący wpływ na komórki linii JEG-3, ponieważ zahamowanie syntezy endogennego progesteronu wyciszało promotor tego receptora (Cheng i wsp., 2001).

Stymulujący wpływ aktywiny A na biosyntezę receptora GnRH nie może być zmodyfikowany obecnością inhibiny, oznacza to, że aktywina stymuluje biosyntezę receptora GnRH w hodowli komórkowej przez mechanizmy odmienne od tych, które wywołuje GnRH. Inhibina nie antagonizuje stymulującego wpływu aktywiny na biosyntezę receptora GnRH jego genu (Braden i Conn, 1992).

Bardziej szczegółowe omówienie struktury GnRH oraz problemy i mechanizmy dotyczące aktywacji genu receptora GnRH są dokładniej opisane w publikacjach Millara i wsp., oraz Chenga i Leunga (Millar i wsp., 2004 oraz Cheng i Leung 2005), także w innych artykułach przeglądowych (Sealfon i wsp., 1997, Kaiser i wsp., 1997, Kochman 2012).

### Sygnalizacja wewnątrzkomórkowa GnRH-R

Związanie ligandu (GnRH) ze specyficznym, odpowiadającym mu receptorem na powierzchni komórki gonadotropowej w przysadce wywołuje zmianę konformacyjną tego receptora, która pozwala z kolei na jego interakcję ze specyficznym dla niego białkiem G, stymulując wymianę nukleotydu guaninowego na podjednostce  $\alpha$  białka G i uwolnienie podjednostki  $\alpha$  oraz podjednostek  $\beta\gamma$  z kompleksu receptora z białkiem G. Białko G inicjuje aktywację klasycznych efektorów sygnalizacji, takich jak fosfolipaza C, cykliczna adenylanowa, kanały wapniowe, oraz reguluje wewnątrzkomórkowy poziom fosforanów inozytolu, wapnia, cyklicznego AMP oraz wielu innych wtórnych przekaźników sygnału (Liu i wsp., 2002; Millar i wsp., 2004).

Aktywacja procesu transkrypcji genów podjednostek gonadotropin zachodzi więc po związaniu się GnRH z jego receptorem, który wiąże się z kolei do rodziny białek  $G_{q/11}$ . Liczne badania wskazują, że wiązanie GnRH do jego receptora prowadzi do aktywacji fosfolipazy C i syntezy 1,4,5-trójfosforanu inozytolu ( $IP_3$ ) oraz dwuacyloglicerolu, który prowadzi bezpośrednio do zwiększenia zawartości wewnątrzkomórkowego  $Ca^{2+}$  oraz do aktywacji kinazy białkowej C (Liu i wsp., 2002).

Kaskada sygnalizacji często wymaga, aby aktywowane białko było w stałym kontakcie z jego bezpośrednim mediatorem. Przerwanie tej wzajemnej interakcji przez wprowadzenie jednej z domen wiążących do wnętrza komórki może zablokować specyficzne ścieżki sygnalizacyjne. Wykazano, że interakcja białek GPCR/G może być przerywana *in vitro*, przez peptydy pochodzące z końca C białka G (Taylor i Neubig 1994).

Po związaniu GnRH z receptorem, następuje indukcja heterotrymerycznych białek G. Ta interakcja inicjuje szereg wewnątrzkomórkowych zjawisk, w tym zwiększenie przemian fosfoinozytydów, które dają w rezultacie zwiększenie wewnątrzkomórkowej zawartości dwuacyloglicerolu i wapnia, a także zwiększenie poziomu cAMP, które aktywują następnie kinazy białkowe: jak kinazę białkową C i kinazę białkową A (Kaiser i wsp., 1997).

Udowodniono, że proces ten aktywuje rodziny białek sygnalizacyjnych ERK, N-końcową kinazę c-Jun oraz p38 MAPK w komórkach przysadki linii L $\beta$ T2 (Liu i wsp., 2002). W tych komórkach zachodzi ekspresja mRNA dla receptora GnRH oraz podjednostek  $\alpha$ - i  $\beta$ -LH i FSH, dlatego są one dość dobrym modelem do badania mechanizmów sygnalizacji i biosyntezy gonadotropin przysadki (Turgeon i wsp., 1996). Aktywacja ERK w jądrze przebiega *via* procesy z udziałem PKC oraz MEK, od których jest zależna; jest natomiast niezależna od wapnia. GnRH indukuje również ekspresję białek c-Fos oraz

LH $\beta$ . Indukcja genów obu tych białek jest niezależna od PKC w komórkach linii L $\beta$ T2 (Liu i wsp., 2002). Zarówno ścieżki sygnalizacji PKC, jak i wapnia są aktywowane *via* ścieżka fosfolipazy C. Aktywacja fosfolipazy C zachodzi równocześnie z wiązaniem ich do białek G $_q$ . To białko G może być aktywowane w komórkach linii LC $\beta$ 1 oraz  $\beta$ 3 (Drissi i wsp., 1998). Aktywacja może zachodzić także niezależnie od G $_q$ , ponieważ G $_{\beta\gamma}$  może aktywować komórki linii PL $\beta$ 2 (Murthy i wsp., 1998). Podjednostki G $_{\beta\gamma}$  uwalniają się zarówno z heterodimerów G $_s$ , jak i z G $_i$  (Dickenson i Hill 1998).

Częściowa aktywacja sygnalizacji zapoczątkowanej przez związanie GnRH z receptorem jest wywołana przez G $_{\beta\gamma}$ , która uwalnia się z G $_q$  czy to z G $_s$ . Izoforma  $\beta$ 2 fosfolipazy C jest aktywowana przez G $_{\beta\gamma}$  w sposób podobny jak cyklaza adenylanowa 2. Sygnalizacja może więc przebiegać przez uczestniczenie G $_{\beta\gamma}$  w obu ścieżkach sygnalizacyjnych, czyli w G $_q$  i G $_s$ , lecz brak efektu hamującego, gdy blokowana jest G $_{\beta\gamma}$  oraz po iniekcji GST-bARK oznacza, że sygnalizacja GnRH zachodzi przede wszystkim za pośrednictwem podjednostki a (Liu i wsp., 2002).

Najlepiej udokumentowanym mechanizmem działania GnRH jest więc ścieżka sygnalizacyjna, po związaniu się z białkiem G $_q$ , jednakże wiele badań wskazuje również na znaczenie fizjologiczne cAMP w przysadce jako na pośrednika działania GnRH (Bourne i Baldwin 1987). Trzeci zwój wewnątrzkomórkowy (IC) receptora GnRH u szczura wiąże się zarówno z białkiem G $_s$  i G $_{q/11}$ , które pośredniczą ścieżkom sygnalizacji w komórkach linii G-GH3. Sygnalizacja cAMP jest zależna od specyficznych reszt w zwoju, które nie są zasadnicze dla aktywacji ścieżki sygnalizacyjnej fosfoinozytydów (Arora i wsp., 1998). Zarówno GnRH, jak i cAMP aktywują promotor genu GnRH-R myszy przez element reagujący z cAMP w komórkach linii G-GH3 (Maya-Núñez i Conn 1999, 2001). Badania nad komórkami przysadkowymi ryby tilapia wykazały, że GnRH indukuje zarówno geny podjednostek a, jak i FSHb i stwierdziły wrażliwość komórek na zahamowanie PKA, co sugeruje aktywację sygnalizacji cAMP (Gur i wsp., 2002; Liu i wsp., 2002). Jednocześnie indukcja LH $\beta$  była względnie odporna na zahamowanie PKA, lecz bardzo wrażliwa na sygnalizację PKC oraz MEK.

Stwierdzono, że stan odporności komórki przysadkowej na działanie GnRH może być indukowany przez chroniczną sygnalizację stymulującą białko G $_q$  (Liu i wsp., 2002). Stosując peptydy TAT, przechodzące przez błonę komórkową i rozprzegające receptor od białka G, dowiedziono, że zarówno białko G $_{q/11}$  jak i G $_s$ , biorą udział w sygnalizacji receptora GnRH w komórkach linii L $\beta$ T2. Białka G $_q$  i G $_s$  uczestniczą w sygnalizacji w komórkach L $\beta$ T2 po aktywacji przez GnRH czynnika ERK i indukcji białek C-Fos i LH $\beta$  (Liu i wsp., 2002). Rezultaty innych eksperymentów sugerują, że zarówno białka G $_q$ , jak i G $_s$  są zaangażowane w sygnalizacji receptora GnRH w komórkach linii L $\beta$ T2, podobnie jak to było w eksperymentach przy użyciu komórek przysadkowych tilapii. Brak zwiększonych zawartości białka podjednostki a w komórkach linii L $\beta$ T2 oraz



ekspresja białka FSH na dość niskim poziomie osłabia znaczenie potwierdzające tych wniosków.

Ponieważ stwierdzono, że GnRH-R aktywuje zarówno białko  $G_q$ , jak i białko  $G_s$  w komórkach linii L $\beta$ T2, to w oparciu o wyniki wielu eksperymentów wysunięto optymistyczną sugestię, że ścieżki sygnalizacyjne  $G_q$  i  $G_s$  mogą być używane w sposób zróżnicowany w regulacji ekspresji genów gonadotropin w zależności od potrzeb fizjologicznych komórek przysadkowych (Liu i wsp., 2002).

### Podsumowanie

Po ustaleniu struktury pierwszorzędowej GnRH w roku 1971 przez dwa niezależne zespoły badawcze, prof. Andrew V. Schally i jego prof. Rogera Guillemina, badania nad GnRH i neuroendokrynną kontrolą funkcji rozrodczej przysadki nabrały natychmiast olbrzymiej intensywności i wszechstronności. Ten trend jest utrzymywany przez 40 lat do chwili obecnej. Można więc powiedzieć, że te odkrycia, za które została przyznana Nagroda Nobla w 1977 roku, stały się niezwykle mocną siłą napędową działań badawczych w tym zakresie. Doprowadziły one do zsyntetyzowania wielu tysięcy analogonów naturalnego GnRH, agonistów i antagonistów, doprowadziły w rezultacie do dość dobrego zrozumienia jego działania i całego systemu przekazywania informacji do komórki przysadkowej po jego związaniu ze specyficznym receptorem na błonie tej i innych komórek, oraz rozwinęło szereg nowych zastosowań klinicznych, takich jak leczenie niepłodności, przedwczesnej dojrzałości, endometriozy i innych zaburzeń. Przede wszystkim ustalono, że do fizjologicznego zadziałania GnRH dla prawidłowego utrzymywania steroidogenezy gonadowej oraz normalnej i prawidłowej funkcji rozrodczej krytycznie ważną sprawą jest zachowanie pulsacyjnego uwalniania GnRH oraz jego właściwego stężenia. Chroniczne, wysokie stężenie GnRH, albo jego agonisty, stymulujące receptory GnRH przysadki indukuje zmiany prowadzące do zahamowania efektywności funkcjonalnej receptora i w rezultacie do hypoaktywności gonad. Takie paradoksalne zahamowanie funkcji gonad w odpowiedzi na farmakologiczny poziom stężenia agonisty GnRH stał się podstawą do wykorzystywania analogonów GnRH w leczeniu klinicznym raka prostaty.

Zostało dowiedzione, że struktura GnRH była obecna w organizmach zwierząt niemal od samego początku ich ewolucji. W okresie 600 mln lat ewolucji zwierząt obydwa końce łańcucha peptydowego GnRH były zachowane jako domeny funkcyjne istotnie wymagane dla wiązania i aktywacji odpowiedniego receptora. Około 400 mln lat temu pojedyncze podstawienie aminokwasu w pozycji 6 łańcucha peptydowego przez aminokwas glicynę ułatwiło powstanie konformacji GnRH skręt- $\beta$ II', a to z kolei ułatwiło GnRH bliską interakcję jego domen funkcjonalnych z receptorem, w przeciwieństwie do poprzedniej sytuacji, gdy interakcja struktury GnRH była w konformacji bardziej

liniowej u gatunków, które podlegały wcześniejszej ewolucji. Struktura GnRH-II na samym początku procesu ewolucji, została zmieniona od razu do takiej formy i konformacji, że wykazuje bardzo wysokie powinowactwo i wiązanie do receptora oraz całkowitą konserwację struktury od ponad 400 mln lat. Ta struktura była od początku tak doskonała, że nie można obecnie poprawić jego siły wiązania z receptorem przez podstawienie jakiegokolwiek aminokwasu naturalnego.

Kończąc ten, z konieczności, krótki artykuł o GnRH i jego receptorze, bardzo krótki wobec olbrzymiej wiedzy już zgromadzonej i stale się powiększającej na ten temat, pragnę zadać sobie pytanie: dlaczego GnRH i jego receptor są tak ważne? Czy obok praktycznego stosowania, badania naukowe, czyli nauka, jest ważna z jeszcze innego powodu? Czy można ją rozpatrywać również w innym wymiarze?

Aby chociaż częściowo odpowiedzieć na te pytania, pragnę zacytować myśl prof. Mariana Jutisza, często powtarzaną przez niego i stosowaną w Jego pięknym życiu: „Każdy człowiek to wielka godność. Nauka przez swe odkrycia czyni tę godność jeszcze większą”.

### **Podziękowania**

Pragnę tu wspomnieć o dwóch pionierach neuroendokrynologii eksperymentalnej w skali światowej, będących jednocześnie wielkimi myślicielami i uczonymi. Jednym z nich jest prof. Eugeniusz Domański (1909-1992), twórca grupy neuroendokrynologicznej i działu fizjologii w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN w Jabłonie. Drugim jest prof. Marian Jutisz (1920-2002), twórca i wieloletni dyrektor Laboratoire des Hormones Polypeptidiques CRNS w Gif-sur Yvette we Francji.

Tak się złożyło, że w pewnym okresie obaj byli moimi szefami i mistrzami. Ich biografie i osiągnięcia naukowe przedstawiałem wcześniej w publikacjach o zasięgu światowym (Kochman 1991, 2000, 2006, 2006a, 2007).

W ścisłej współpracy z tymi uczonymi, korzystając z ich wiedzy i zapału twórczego, wykonałem wiele bardzo wartościowych badań, zakończonych wspólnymi publikacjami w pismach naukowych o zasięgu światowym.

Wspomnę tylko niektóre z nich: oczyszczanie do wysokiego poziomu oczyszczenia i charakteryzacja GnRH (wówczas LH-RF) (Kochman 1966, Kochman 1969, Kochman i Domański 1969), biosynteza GnRH, określenie jednoznacznie rybosomalnego charakteru tej biosyntezy (Kochman i wsp., 1977; 1982); badania nad degradacją GnRH (Kochman i wsp., 1975), izolacja i oczyszczenie receptora GnRH do wysokiego stopnia oczyszczenia, takiego gdy jeszcze zachowano zdolność wiązania liganda (Jansem i wsp., 1984).

Zachowuję pamięć o tych uczonych i moich mistrzach.

**Literatura**

- Adams B.A., Tello J.A., Erchegyi J., *Six novel gonadotropin-releasing hormones are encoded as triplets on each of two genes in the protochordate, Ciona intestinalis*. *Endocrinology* 2003, 144: 1907-1919.
- Adelman J.P., Mason A.J., Hayflick J.S., Seeburg P.H., *Isolation of the gene and hypothalamic cDNA for the common precursor of gonadotropin-releasing hormone and prolactin release-inhibiting factor in human and rat*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986; 83: 179-183.
- Arora K.K., Krsmanovic L.Z., Mores N. et al. *Mediation of Cyclic AMP signaling by the first intracellular loop of the gonadotropin-releasing hormone receptor*. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 25581-25586.
- Barran P.E., Roeske R.W., Pawson A.J. et al. *Evolution of constrained gonadotropin-releasing hormone ligand conformation and receptor selectivity*. *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 38569-38575.
- Bourne G.A., Baldwin D.M., *Evidence for cAMP as a mediator of gonadotropin secretion from male pituitaries*. *Amer. J. Physiol.* 1987, 253: E296-E299.
- Braden T.D., Conn P.M., *Activin-A stimulates the synthesis of gonadotropin-releasing hormone receptors*. *Endocrinology* 1992; 130: 2101-2105.
- Burgus R., Butcher M., Amoss M. et al. *Primary structure of ovine hypothalamic luteinizing hormone-releasing factor (LRF)*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1972; 69: 278-282.
- Chen A., Yahalom D., Ben-Aroya N. et al. *A second isoform of gonadotropin-releasing hormone is present in the brain of human and rodents*. *FEBS Lett.* 1998, 435: 199-203.
- Cheng K.W., Ngan E.S., Kang S.K. et al. 2000. *Transcriptional down-regulation of human gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor gene by GnRH: role of protein kinase C and activating protein 1*. *Endocrinology* 1998; 141, 3611-3622.
- Cheng K.W., Cheng C.K., Leung P.C., *Differential role of PR-A and -B isoforms in transcription regulation of human GnRH receptor gene*. *Mol. Endocrinol.* 2001; 15, 2078-2092.
- Cheng C.K., Leung P.C., *Molecular biology of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-I, GnRH-II, and their receptors in humans*. *Endocrine Rev.* 2005; 26, 283-306.
- Chi I., Zhou W., Prikhozhan A. et al. *Cloning and characterization of the human GnRH receptor*. *Mol. Cell Endocrinol.* 1993; 91, R1-R6.
- Dickenson J.M., Hill S.J., *Involvement of G-protein beta gamma subunits in coupling the adenosine A1 receptor to phospholipase C in transfected CHO cells*. *Eur. J. Pharmacol.* 1998; 355, 85-93.
- Drissi H., Lasmoles F., Le Mellay V. et al. *Activation of phospholipase C-beta1 via Ghalpaq/11 during calcium mobilization by calcitonin gene-related peptide*. *J. Biol. Chem.* 1998; 273, 20168-20174.
- Eidne K.A., Sellar R.E., Couper G. et al. *Molecular cloning and characterization of the rat pituitary gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor*. *Mol. Cell Endocrinol.* 1992; 90, R5-R9.
- Fowkes R.C., Desclozeaux M., Patel M.V. et al. *Steroidogenic factor-1 (SF-1) and the gonadotropin-specific element (GSE) enhance basal and pituitary adenylyl cyclase-activating polypeptide (PACAP)-stimulated transcription of the human glycoprotein hormone  $\alpha$ -subunit gene (aGSU) in gonadotropes*. *Mol. Endocrinol.* 2003, 17, 2177-2188.
- Gur G., Bonfil D., Safarian H. et al. *GnRH signaling pathways regulate differentially the tilapia gonadotropin subunit genes*. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2002; 189, 125-134.
- Halvorson L.M., Kaiser U.B., Chin W.W., *Stimulation of luteinizing hormone  $\beta$  gene promoter activity by the orphan nuclear receptor, steroidogenic factor-1*. *J. Biol. Chem.* 1996; 271, 6645-6650.

- Iwakoshi E., Takuwa-Kuroda K., Fujisawa Y., 2002. Isolation and characterization of a GnGH-like peptide from *Octopus vulgaris*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 291, 1187-1193.
- Janssen de Almeida Cahanho M.T., Bérault A., Théoleyre M. et al. *Obtention du récepteur hypophysaire de la gonadolibérine (GnRH) à l'état hautement purifié*. *C.R. Acad. Sci. Paris* 1984; 298, Serie III, 177-180.
- Kaiser U.B., Conn P.M., Chin W.W., *Studies of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) action using GnRH receptor-expressing pituitary cell lines*. *Endocrine Rev.* 1997; 18, 46-70.
- Kakar S.S., Musgrove L.C., Devor D.C. et al. *Cloning, sequencing, and expression of human gonadotropin releasing hormone (GnRH) receptor*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992; 189, 289-295.
- Kakar S.S., Rahe C.H., Neil J.D. 1993. *Molecular cloning, sequencing and characterizing the bovine receptor for gonadotropin releasing hormone (GnRH)*. *Domest. Anim. Endocrinol.* 10, 335-342.
- Kochman K., *Some biochemical properties of LH-releasing factor from ovine hypothalamus*. Third International FEBS Meeting, Warsaw 4-7 April, 1966. Book of Abstracts, 1966; Abstract F 302, p. 333.
- Kochman K., *Badania nad oczyszczaniem substancji podwzgórzowych, mających własność uwalniania hormonów gonadotropowych z przysadki*. Rozprawa doktorska. Instytut Biologii Stosowanej Polskiej Akademii Nauk. Kraków 1969.
- Kochman K., *The Eightieth Anniversary of Prof. Eugeniusz Domański. Congratulations*. *Exp. Clin. Endocrinol.* 1991, 97, 117-118.
- Kochman K., *Laudatio to Professor Marian Jutisz, outstanding scientist, great humanist and patriot, on his 80<sup>th</sup> Anniversary*. *Neuroendocrinol. Lett.* 2000; 21, 353-354.
- Kochman K., *Le Professeur Marian Jutisz, neuroendocrinologue éminent et l'un des fondateurs de la "Société de Neuroendocrinologie"*. *Annales du Centre Scientifique de l'Académie Polonaise des Sciences*. 2006; 9, 139-149.
- Kochman K., *Profesor Marian Jutisz (1920-2002) – wybitny neuroendokrynolog, humanista, wielki patriota polski i francuski*. *Nauka* 2006; 4, 143-150.
- Kochman K., *Profesor Marian Jutisz – jeden z najwybitniejszych pionierów neuroendokrynologii, wielki humanista, patriota polski i francuski, entuzjasta Zjednoczonej Europy*. Seminarium „Mechanizmy służące utrzymaniu i regulacji fizjologicznych”, Kraków 15 września 2007. Materiały Seminarium, str. 43-49.
- Kochman K., Domanski E., *Studies on purification of the hypothalamic substances responsible for the release of gonadotropins from the pituitary gland*. *Acta Physiologica Pol.* 1969; 20, 441-453.
- Kochman K., Kerdelhue B., Zor U., Jutisz M., *Studies of enzymatic degradation of luteinizing hormone-releasing hormone by different tissues*. *FEBS Lett.* 1975; 190-194.
- Kochman K., Kerdelhue B., Ostrowska A. et al. *Biosynthesis, in vivo, of gonadotropin-releasing hormone in the hypothalamus of normal and ovariectomized female rats*. *Mol. Cell. Endocrinol.* 1982; 25, 193-202.
- Kochman K., Kochman H., Domański E., *Biosynthesis of the luteinizing hormone releasing hormone in the rat hypothalamus*. *Acta Physiol. Pol.* 1977; 28, 353-358.
- Liu F., Usui I., Evans L.G. et al. *Involvement of both G<sub>q/11</sub> and G<sub>s</sub> proteins and gonadotropin-releasing hormone receptor-mediated signaling in LbT2 cells*. *J. Biol. Chem.* 2002, 30, 32099-32108.
- Matsuo H., Baba Y., Nair R.M.G., Arimura A., Schally A.V., *Structure of porcine LH- and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1971; 43, 1334-1339.

- Maya-Núñez G., Conn P.M., *Cyclic adenosine 3'5'-monophosphate (cAMP) and cAMP responsive element binding protein are involved in the transcriptional regulation of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor by GnRH and nitrogen-activated protein kinase signal transduction pathway in GGH<sub>3</sub> cells.* Biol. Reprod. 2001; 65, 561-567.
- Maya-Núñez G., Conn P.M., *Transcriptional regulation of the gonadotropin-releasing hormone receptor gene is mediated in part by a putative repressor element and by the cyclic adenosine 3',5'-monophosphate response element.* Endocrinology 1999; 140, 3452-3458.
- Millar R.P., Lowe S., Conklin D. et al., *A novel mammalian receptor for the evolutionarily conserved type II GnRH.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2001; 98, 9636-9641.
- Millar R.P., Lu Z.L., Pawson A.J. et al. *Gonadotropin-releasing hormone receptors.* Endocrine Rev. 2004; 25, 235-275
- Murthy K.S., Makhlof G.M., *Coexpression of ligand-gated P2X and G protein-P2Y receptors in smooth muscle. Preferential activation of P2Y receptors coupled to phospholipase V (PLC)-beta1 via Galphaq/11 and to PLC-beta3 via Gbetagamma3.* J. Biol. Chem. 1998; 273, 4695-4704.
- Ngan E.S., Cheng P.K., Leung P.C., Chow B.K., *Steroidogenic factor-1 interacts with a gonadotropin-specific element within the first exon of the human gonadotropin-releasing hormone receptor gene to mediate gonadotropin-specific expression.* Endocrinology 1999; 140, 2452-2462.
- Norwitz E.R., Cardona G.R., Jeong K.H., Chin W.W., *Identification and characterization of the gonadotropin-releasing hormone response elements in the mouse gonadotropin-releasing hormone receptor gene.* J. Biol. Chem. 1999; 274, 867-880.
- Norwitz E.R., Xu S., Jeong K.H. et al. *Activin A augments GnRH-mediated transcriptional activation of the mouse GnRH receptor gene.* Endocrinology 2002; 143, 985-997.
- Radovick S., Wondisford F.E., Nakayama Y. et al. *Isolation and characterization of the human gonadotropin-releasing hormone gene in the hypothalamus and placenta.* Mol. Endocrinol. 1990; 4, 476-480.
- Roch G.J., Busby E.R., Sherwood N.M. *Evolution of GnRH: Diving deeper.* Gen. Comp. Endocrinol. 2011; 171, 1-16.
- Sealfon S.C., Weinstein H., Millar R.P. *Molecular mechanism of ligand interaction with gonadotropin-releasing hormone receptor.* Endocrine Rev. 1997; 18, 180-205.
- Shields D.J., Agellon L.B., Vance D.E., *Structure, expression profile and alternative processing of the human phosphatidyl ethanolamine N-methyltransferase (PEMT) gene.* Biochim. Biophys. Acta 2001; 1532, 105-114.
- Taylor J.M., Neubig R.R., *Peptides as probes for G protein signal transduction.* Cell. Signal. Cell. Signal. 1994; 6, 841-849.
- Tensen C., Okuzawa K., Blumenroehr M. et al. *Distinct efficacies for two endogenous ligands on a single cognate gonadoliberin receptor.* Eur. J. Biochem. 1997; 243, 134-140.
- Weesner G.D., Matteri R.L. *Rapid communication: nucleotide sequence of luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) receptor cDNA in the pig pituitary.* J. Anim. Sci. 1994; 72, 1911.
- White R.B., Eisen J.A., Kasten T.L., Fernald R.D., *Second form of gonadotropin-releasing hormone in humans.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1998; 95, 305-309.

### Skróty stosowane w artykule

GnRH	– hormon uwalniający gonadotropiny	b	– zasady w kwasach nukleinowych
LH	– hormon luteinizujący	kb	– kilo zasad (tysiąc)
FSH	– hormon dopęcherzykowy	c-Jun, c-Fos	– czynniki transkrypcyjne

MAPK	– kinaza białkowa aktywowana mitogenem	ER	– receptor estrogenowy
ERK	– kinazy aktywowane przez sygnały zewnątrzkomórkowe	JNK	– kinaza c-Jun końca aminowego łańcucha
cAMP	– cykliczny adenozyntrójfosforan	GSE	– element specyficzny dla gonadotropin
PKA	– kinaza białkowa A	GPCR	– receptor związany z białkiem G
PKC	– kinaza białkowa C	GAP	– peptyd związany z GnRH
SF-1	– czynnik steroidogeny	CRE	– element wrażliwy na cAMP
AP-1	– białko aktywujące 1	MEK	– kinaza MAPK
STAT	– cytoplazmatyczne białko regulujące geny	UTR	– region niepodlegający translacji
JAK	– kinaza tyrozynowa Janusa	TM	– region transmembranowy
PR	– receptor progesteronowy	EC	– region zewnątrzkomórkowy
		IC	– region wewnątrzkomórkowy

### GnRH and its receptor

Determination for the first time, of primary structure of GnRH, by two independent research groups, released the very avalanche of research on the spectrum aspects concerning both the decapeptide and its receptor. Thirty (30) structural forms of natural GnRH were identified and determined in vertebrates and in invertebrates. In many vertebrates, three forms of GnRH and three cognate receptors were identified with distinct distributions and functions. Human hypothalamic GnRH regulates LH and FSH secretion through the pituitary GnRH type I receptor via activation of  $G_q$ . Studies identified amino acid residues both in the ligand and receptor involved in binding, receptor activation, and translation into intracellular signal transduction. The predominant binding of the GnRH type I receptor in the gonadotrope is through  $G_q$  stimulation, signal translation can be propagated also via other G proteins and potentially by G protein-independent means. The eventual selection of intracellular signaling may be specifically directed by differences in ligand structure. A second form of GnRH, GnRH II, conserved in all higher vertebrates including man, for more than 400 millions years of evolution, is present in extrahypothalamic brain and many reproductive tissues. Its cognate receptor was cloned from different vertebrate species, including primates. The human gene homolog of this receptor, however, has a frameshift and stop premature codon, and it appears that GnRH II signaling takes place in humans through the GnRH type I receptor. There is a considerable plasticity in the use of different GnRHs, receptors, and signaling pathways for diverse functions. GnRH and its analogs are used extensively for the treatment of hormone-dependent diseases and in assisted reproductive technology. They are potentially used as contraceptives in men and women. The precise estimation of the molecular mechanisms involved in ligand binding to receptor, subsequent activation, and intracellular signal transduction, is very essential to understanding disease processes. Delineation of the structural elements in GnRH and its receptor, which facilitates differential signaling, will importantly contribute to the development of new interventive analogs. The enormous, broad, multidirectional and profound research on GnRH and its receptor leads, step by step, to an triumphal understanding the kernel of reproductive mechanisms.

**Key words:** GnRH and its gene, receptor GnRH and its gene, LH, FSH, hypothalamus, pituitary, gonadotropin release